

THESIS

GIESSEN

1967

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Direktor: Professor Dr. O. Dehner

**Der Porphyrinstoffwechsel der Tiere
unter besonderer Berücksichtigung des Hundes**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen**

Eingereicht von
Karl Seeger
Tierarzt aus Stuttgart

Gießen 1967

LAME MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
310 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Direktor: Professor Dr. O. Dehner

**Der Porphyrinstoffwechsel der Tiere
unter besonderer Berücksichtigung des Hundes**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Karl Seeger
Tierarzt aus Stuttgart

Gießen 1967

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät
in Giessen

=====

Dekan: Professor Dr. F. Ulbrich

Berichterstatter: Professor Dr. O. Dehner

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Juli 1967

Meiner lieben Mutter

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Die Porphyrine	2
A. Konstitution und Stoffwechsel	
B. Porphyrinstoffwechsel	9
III. Störung des Porphyrinstoffwechsels	15
A. Endogene Störungen	
B. Symptomatische Porphyrinurie	20
IV . Eigene Untersuchungen	27
Harngewinnung	
Methodik der Koproporphyrin- extraktion	30
kontrolle der Extraktion	38
Korrekturformel nach Sveinsson, Rimington und Barnes (50)	39
Untersuchungsergebnisse	43
V. Diskussion der Ergebnisse	46
VI. Zusammenfassung und Schlußsätze	47
VII. Literaturverzeichnis	48

I. Einleitung

Die Kenntnisse der Stoffwechselvorgänge bei Mensch und Tier werden in unserer Zeit immer umfassender und tiefer. Diese Entwicklung ist nicht nur deshalb zu begrüßen, weil sie vom Standpunkt der reinen Wissenschaft einen Fortschritt bedeutet.

Es kommt hinzu, daß auch die praktische Medizin stets versucht, neue Erkenntnisse der reinen Wissenschaft für die Diagnose, Prognose und Verlaufskontrolle von Krankheitsfällen heranzuziehen.

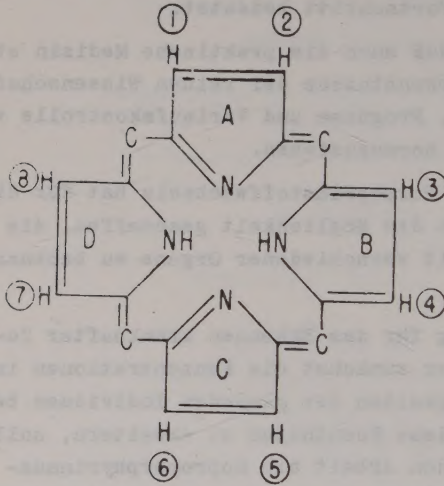
Die Kenntnis des Porphyrinstoffwechsels hat für die klinische Medizin die Möglichkeit geschaffen, die Funktionsfähigkeit verschiedener Organe zu beobachten.

Als Voraussetzung für das Erkennen krankhafter Zustände müssen aber zunächst die Konzentrationen in den Körperflüssigkeiten der gesunden Individuen bekannt sein. Um diese Kenntnisse zu erweitern, soll in der vorliegenden Arbeit die Koproporphyrinausscheidung im Tagesharn bei kleinen Hunden untersucht werden. Damit wird die Tagesmenge des ausgeschiedenen Porphyrins bewußt in Beziehung gesetzt zur Körpergröße der untersuchten Tiere.

II. Die Porphyrine

A. Konstitution und Stoffwechsel

Bei den Porphyrinen handelt es sich um organische Verbindungen aus vier Pyrrolkernen, die durch Metuingruppen verknüpft sind.



Porphin

Abb. 1

Nach der Art und Anordnung der Radikale, die die Stellung der H-Atome 1 bis 8 einnehmen, unterscheidet man verschiedene Stellungsisomeren.

Bei zwei verschiedenen Substituenten sind vier Isomere theoretisch möglich, bei drei unterschiedlichen Substituenten gibt es bereits 15 theoretische Möglichkeiten der Isomerie.

An Substituenten kommen als wichtigste folgende vor:

Methylreste	-CH ₃
Äthylreste	-CH ₂ -CH ₃
Propionsäure- rest	- CH ₂ -CH ₂ -COOH
Essigsäure- rest	-CH ₂ -COOH

Nach F i s c h e r und O r t h (10) können aber auch die 15 Isomeren aus der Gruppe mit 3 verschiedenen Substituenten in das System mit 2 unterschiedlichen Substituenten eingeordnet werden. So wird das Protoporphyrin IX des Häm auch der Reihe der III Isomeren zugeordnet.

Merkwürdigerweise treten bei lebenden Organismen nur I und III Isomeres auf, so daß man auch von der Dualität der Porphyrine spricht.

Physikalisch - Chemische Eigenschaften

Das Porphyrinmolekül stellt wegen seines zyklischen Systems konjugierter Doppelbindungen eine Struktur mit Resonanz dar. Aus dieser Resonanz folgt eine Lichtaktivität der Porphyrine. Bei Einwirkung von Licht mit geeigneter Wellenlänge fluoreszieren die Porphyrine. Bringt man gelöstes Porpyhrin in den Strahlengang einer Lichtquelle, so werden bestimmte Teile des Spektrums ziemlich stark absorbiert.

Diese Eigenschaften erlauben eine recht genaue quantitative Bestimmung der Porphyrine durch fluorometrische und extinktionsphotometrische Messungen F a l l o t (8).

Alle Porphyrine sind in wässrigem Medium bei neutraler Reaktion unlöslich, dagegen lösen sie sich

gut im sauren und alkalischen Milieu und unterschiedlich gut in organischen Lösungsmitteln.

Die Löslichkeit der Porphyrine in verschiedenen Medien wird auch zu ihrer Charakterisierung verwendet. Besonders häufig wird dazu die Salzsäurezahl benutzt. Sie ist eine Materialkonstante und gibt die Konzentration der Salzsäure in Prozent an, mit der aus einem gleichen Volumen Diäthyläther zwei Drittel des gelösten Porphyrins extrahiert werden.

Hämatoporphyrin

(1,3,5,8, Tetramethyl-2,4,di oxäthylporphin-6,7, dipropionsäure)

Molekulargewicht 598,68

Salzsäurezahl 0,1

Extinktionsmaxima im nahen UV

gelöst in:	5 % HCl	402 nm	(Lipson und Baldes 30)
	5 % HCl	402 nm	(Heilmeyer 16)
	25 % HCl	410,5 nm	(Siedel 48)

Uroporphyrin

Uroporphyrin I 1,3,5,7, tetraessigsäure
2,4,6,8, tetrapropionsäure Porphin

Uroporphyrin II 1,3,5,8, tetraessigsäure
2,4,6,7, tetrapropionsäure Porphin

Molekulargewicht 830,73

Salzsäurezahl: Uroporphyrin ist in Diäthyläther unlöslich

Extinktionsmaximum im UV bei 406,6 nm bei Lösung in 2 n Salzsäure (Siedel 48).

Koproporphyrin

Koproporphyrin I 1,3,5,7, tetramethyl-porphin-
 2,4,6,8, tetrapropionsäure

Koproporphyrin II 1,3,5,8, tetramethyl-porphin-
 2,4,6,7, tetrapropionsäure

Salzsäurezahl: 0,09

Molekulargewicht: 654,7

Extinktionsmaximum im nahen UV

gelöst in:	1,5 N HCl	403,5 nm	(J o p e und O'Brien 23)
	5 % HCl	403,5 nm	(P a i c 35)
	1,5 N HCl	ca 402 nm	(Z o n d a g und V a n K a m p e n 58)
	5 % HCl	401 nm	(K e h l und G ü n t e r 26)

Zur Identifizierung der einzelnen Isomeren wurde die Bestimmung des Schmelzpunktes des zugehörigen Methylesters vorgeschlagen. Neuerdings wird die Chromatographie zur Isomerentrennung und -identifizierung angewandt (R i m i n g t o n und M i l e s 41).

Porphyrine und ihre Derivate treten in der Natur überall und sehr häufig auf. So ist Chlorophyll ein Magnesiumkomplexsalz eines Porphyrins. Die prosthetische Gruppe des Hämoglobins und des Myoglobins sind Eisenkomplexsalze des Protoporphyrins IX, ferner bestehen die prosthetischen Gruppen der Cytochrome aus Hämatoporphyrin. Außerdem sind Porphyrinmoleküle Bestandteile der Peroxydasen und Katalasen (Z e i l e 56).

Neben dem Vorkommen bei gesunden und kranken Säugertieren, über das noch Näheres ausgeführt wird, treten Porphyrine in Kulturen von *Myobacterium tuberculosis* und *Corynebacterium diphtheriae* und anderen Bakterienarten, in der Kapsel von Rinderrinnen, in Muschel- und Eierschalen und als grünes Kupferkomplexsalz in den Federn von Turacusarten auf (R i m i n g t o n 40).

Pharmakologie und Toxikologie der Porphyrine

Die auffälligste Eigenschaft der Porphyrine im Tierkörper ist ihre photosensibilisierende Wirkung. Wird Tieren mit unpigmentierter Haut Porphyrin verabreicht und werden diese Tiere dann eine Lichtquelle ausgesetzt, die Licht von geeigneter Wellenlänge ausstrahlt, so treten die Erscheinungen der Photodermatitis auf, Oedeme, Transsudationen und später Nekrosen (L i p s o n und B a l d e s 30). Dieselben Autoren fanden die maximale Fluoreszenz von Hämatoporphyrin, das in Plasma gelöst wurde zwischen 400 und 407 nm. Hauterscheinungen bei weißen Mäusen traten dagegen auch noch bei Licht von größerer Wellenlänge auf.

Nach V a n n o t t i (52) sollen Wellenlängen von 490 bis 580, 265 bis 313 nm und um 250 nm besonders stark wirken. Nach C l a r e (5) ist die photosensibilisierende Wirkung an die Anwesenheit von Sauerstoff gebunden, im Gegensatz zum Sonnenbrand, zu dessen Entstehung Sauerstoff nicht unbedingt notwendig sein soll.

Der Zusatz von Porphyrin zu Serum und die Bestrah-

lung dieses Gemisches mit ultraviolettem Licht in vitro bewirkt eine Denaturierung von Globin, außerdem soll das Fibrin dadurch seine Gerinnungsfähigkeit verlieren.

Der mutigste Versuch zur Photosensibilisierung wurde von M e y e r - B e t z (31) durchgeführt, der sich selbst Hämatoporphyrin in alkalischer Lösung intravenös injizierte und durch ultraviolette Strahlen Erscheinungen auf der Haut erzielen konnte, wie sie bei der angeborenen Porphyrrie auftreten.

Nicht so eindeutig gelöst ist das Problem, ob Porphyrine auch auf andere Organe wirken. S i m i c i (49) fand, daß Hämatoporphyrin eine kinetische Wirkung auf den Hundemagen hat. Weiter beschreiben R e i t l i n g e r und K l e e (38) die eindeutig tonisierende Wirkung auf den Darm und eine Vermehrung der Darmperistaltik durch geringe Mengen Porphyrin, diese Wirkung war durch Atropin nicht aufzuheben, so sollen Spasmus und Atonie unmittelbar nebeneinander am selben Darmabschnitt auftreten. Mit dieser Wirkung versuchte man sich die Symptome der akuten, abdominalen Porphyrrie und die Bleikolik des Menschen zu erklären.

Andere Untersucher fanden aber keine Wirkung der Porphyrrie und des Porphobilinogens auf Darm und Uterus von Versuchstieren. (G o l d b e r g, P a t o n und T h o m p s o n 13).

Porphyryne in der Therapie

Zur Therapie wird Hämatoporphyrin-Nencki (Nordmark) verwendet. Dieses Präparat wird in der Humanmedizin zur Bekämpfung von Depressionen verwandt. Nach K ä m m e r e r (24) soll es außerdem den Haut-

turgor erhöhen und die Blutbildung stimulieren.

Anwendungen aus der Veterinärmedizin sind nicht bekannt.

B. Porphyrinstoffwechsel

Synthese der Porphyrine

Alle Porphyrine des tierischen Körpers, einschließlich des Häm-Protochlorophylls haben einen gemeinsamen Syntheseweg. Seit dem Versuch von S h e m i n und R i t t e n b e r g (47) gilt es als erwiesen, daß am Anfang der Porphyrinsynthese das Glykokoll (Aminoessigsäure) steht. Mit N^{15} -Isotopen wurde nachgewiesen, daß die Stickstoffatome des Häm aus Glykokollmolekülen stammen. Weiter ist bewiesen, daß das Methylkohlenstoffatom des Glykokoll in die Ringstruktur des Porphyrins eingeführt wird. Somit stammen die vier Stickstoffatome und acht der 34 Kohlenstoffatome des Porphyrinmoleküls aus acht Glykokollmolekülen, während die übrigen Kohlenstoffatome aus Succinyl-Coenzym A, einem Zwischenprodukt des Zitronensäurezyklus stammen (J.J. K a n e k o 25).

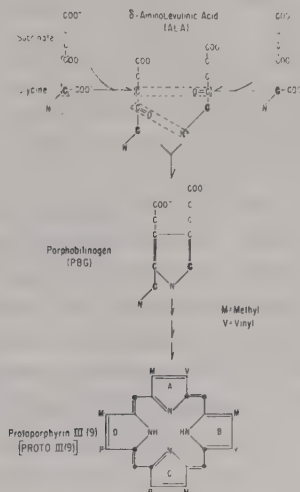


Abb. 2

nach J.J. Kaneko

Die Synthese von α -Aminolävulinsäure (ALA)

Den ersten Syntheseschritt stellt die enzymatische Kondensation von Glykokoll mit Succinyl-Coenzym A zu α -Aminolävulinsäure dar. Zu dieser Reaktion ist nach G i b s o n et al. (12) Vitamin B₆ als Pyridoxalphosphat nötig.

Die Reaktion läuft so ab, daß sich ein Glykokoll-Pyridoxalphosphat-Komplex bildet, der sich mit Succinyl-Coenzym A verbindet. Diese Reaktion wird durch α -Aminolävulinsäure-Synthetase katalysiert, die vermutlich mit den Mitochondrien in Verbindung steht (K i k u c h i et al. 28).

Porphobilinogen

Zwei ALA - Moleküle kondensieren bei Anwesenheit der kupferhaltigen ALA Dehydrase zu Porphobilinogen (PBG) (A n d e r s o n und T o v e 2). Porphobilinogen ist bereits ein Pyrrol und tritt im Harn von Patienten auf, die am hepatischen Typ der Porphyrie erkrankt sind (W e s t a l l 55).

Uroporphyrinogen

Der nächste Schritt der Synthese ist die Cyclisierung des Porphobilinogens. Der Mechanismus dieses Vorgangs ist noch nicht gesichert. B o g o r a d (4) nimmt an, daß die Synthese des Uroporphyrinogens das Ergebnis der Aktivität zweier Enzyme ist, der Porphobilinogen-deaminase und der Uroporphyrinogen-isomerase. Die Deaminase katalysiert die Kondensation von Di- oder Tripyrrolen, die dann in Gegenwart der Uroporphyrinogen-isomerase zu Tetrapyrrolen vereinigt werden, die vorzugsweise Isomere des III-Typs

sind. Ist Isomerase nicht oder nicht in genügender Menge vorhanden, so wird vermehrt I Isomeres gebildet.

Die acht Carboxylgruppen des Uroporphyrinogens werden dann progressiv decarboxyliert, das Hauptprodukt ist Coproporphyrinogen. Das Enzym, das diese Reaktion vermittelt, ist unspezifisch und katalysiert die Decarboxylierung sowohl vom Typ I wie auch vom Typ III.

Im nächsten Schritt wird durch Coproporphyrinogen-decarboxylase Coproporphyrinogen III in Protoporphyrinogen III übergeführt, wobei zwei Propion-säurereste zu Vinylresten decarboxyliert werden. Dieses Enzym soll spezifisch für den Typ III sein und das überwiegende Auftreten von Isomeren des Typ III bei Säugetieren erklären.

Schließlich wird Protoporphyrinogen III zu Protoporphyrin III oxydiert. Nach der heutigen Auffassung sind Koproporphyrin und Uroporphyrin Nebenprodukte dieser Synthese.

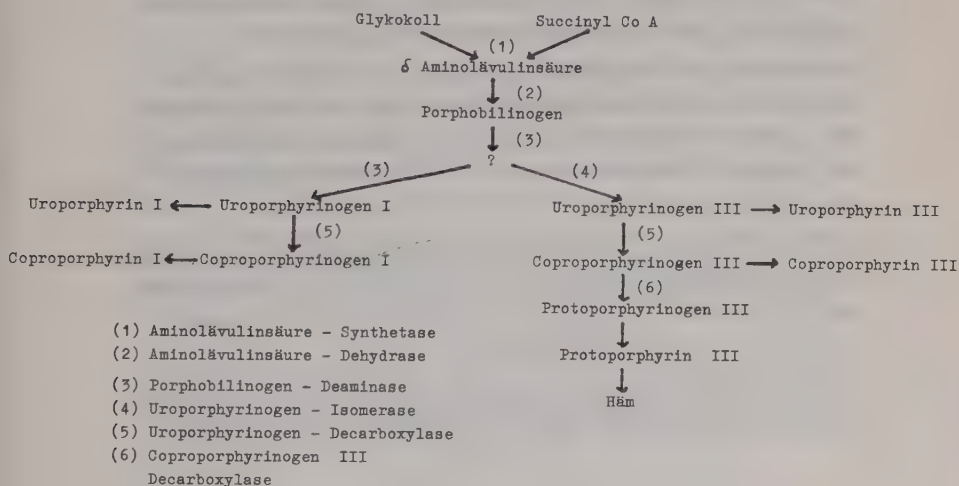


Abb. 3

Erklärungen siehe Text

Weiterer Verlauf des Porphyrinstoffwechsels

Die Porphyrine, die so als Nebenprodukte der Häm-synthese entstanden sind, können im Blut zunächst nachgewiesen werden. In den Erythrozyten kommt physiologischerweise freies Protoporphyrin III in einer Menge von 24 - 52 mikrogramm/100 ml Erythrozyten vor (W a t s o n 54). Koproporphyrin III tritt in einer Menge bis zu 2,0 mikrogramm/100 ml Erythrozyten des Menschen auf (W a t s o n 54).

Im Serum Gesunder konnten Hijmans van den B e r g h und G r o t e p a s s (17) Koproporphyrin nur in Spuren finden.

Aus dem Blut wird der grösste Teil der Porphyrine über Leber und Galle ausgeschieden. Nach Z e i l e (56) täglich 200 - 300 Mikrogramm.

Dieses Porphyrin, das mit der Galle in den Darm gelangt, geht zum Teil mit den Faeces ab, ein anderer Teil wird im Darm rückresorbiert und gelangt in die Leber zurück. Dort wird ein Teil des Porphyrins zerstört, ein anderer umgebaut in andere Porphyrine oder unverändert mit der Galle wieder ausgeschieden.

Geringe Mengen Porphyrin gelangen über den Blutkreislauf in die Niere und werden über den Harn ausgeschieden. Auch die Porphyrinvorläufer, Aminolävulinsäure und Porphobilinogen werden über die Niere ausgeschieden.

Der Mann scheidet täglich im Durchschnitt 166 ± 45 Mikrogramm Koproporphyrin aus, die Frau 134 ± 41 mikrogramm, wie Z i e v e , H i l l l , S c h w a r t z und W a t s o n (57) feststellten.

Unabhängig von den körpereigenen Porphyrinen treten im Darm auch Porphyrine auf, die anderer Herkunft sind.

Mit der Nahrung wird Hämoglobin, Myoglobin und Chlorophyll aufgenommen, die im Darm in Porphyrin umgewandelt werden können. Diese Umwandlung findet im Dünndarm und oberen Colon statt. Porphyrine in den Faeces können auch von Darmblutungen stammen (B o a s 3).

Weiter sind einige Bakterienarten fähig, Porphyrine aus niedriger-molekularen Verbindungen zu synthetisieren (V a n n o t t i 52).

Diese heterogenen Porphyrine werden teilweise im Darm ebenfalls resorbiert und können zu erhöhter Porphyrinurie führen (F i s c h e r und H i l m e r 9). Der größte Teil wird allerdings mit den Faeces abgehen.

L a r s o n und W a t s o n (29) konnten allerdings für den Menschen nicht bestätigen, daß oraler Aufnahme von Porphyrinen oder Porphyrinkomplexsalzen eine Erhöhung der Porphyrinausscheidung im Harn folgt.

Porphyrinstoffwechsel beim Hund

Beim Hund sind die Stoffwechselbedingungen nicht so eingehend studiert worden. Trotzdem sind einige Arten bekannt. D o b r i n e r (6) beobachtete bei zwei Hunden mit Nierenbeckenfisteln die Porphyrinausscheidung und fand, im Tagesharn 291 bis 445 Mikrogramm Koproporphyrin nach Verfüttern von Hundegalle, aber nur 83 bis 118 Mikrogramm, wenn er koproporphyrinfreie Ochsen-galle verfütterte. Beim zweiten Hund fand er 181 bis 195 Mikrogramm am Tag. Leider gibt D o b r i n e r nur an, daß beide Hunde verschieden groß waren, nicht aber deren genaues Gewicht.

Mit diesem Versuch wies D o b r i n e r nach, daß Koproporphyrin von Hunden ausgeschieden wird, daß die

Ausscheidung abhängig von der Hämoglobinsynthese ist, und daß Koproporphyrin I kein Abbauprodukt des Hämoglobins darstellt, daß Koproporphyrin außerdem enteral resorbiert wird. Weitere Untersuchungen führten S c h w a r t z , Z a g a r i a und W a t s o n (45) durch. Sie fanden eine Tagesausscheidung von 50 Mikrogramm Koproporphyrin im Harn und von 50 Mikrogramm Koproporphyrin im Tageskot. In den Erythrozyten fanden sie 35 Mikrogramm/100 ml Protoporphyrin.

Nach L a r s o n und W a t s o n (29) beträgt die Tagesausscheidung an Koproporphyrin im Harn 10 - 36 Mikrogramm pro Tag, bei zwei Hunden zwischen 20 und 30 pound Gewicht, allerdings konnten diese Autoren eine erhöhte Koproporphyrinausscheidung im Harn nach Verfüttern von Fleisch oder von reinem Koproporphyrin nicht beobachten.

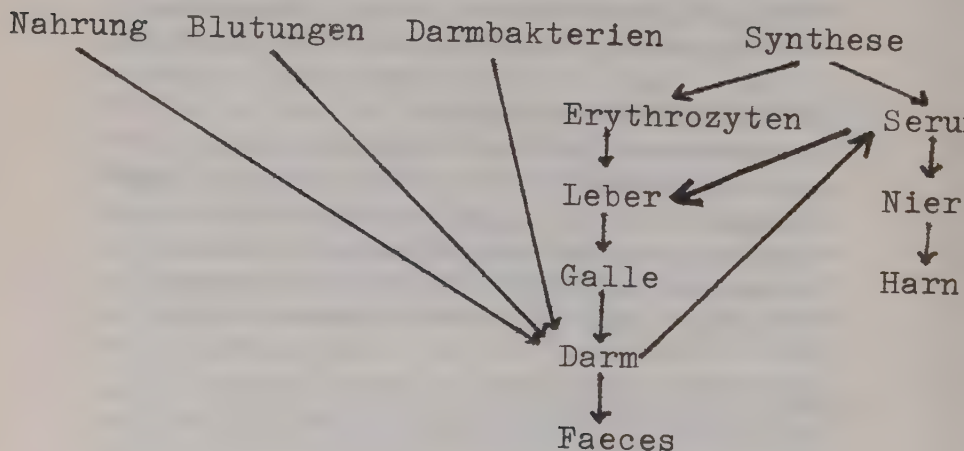


Abb. 4 Schema des Porphyrinstoffwechsels

III. Störung des Porphyrinstoffwechsels

Von den möglichen Störungen des Porphyrinstoffwechsels sollen hier nur solche betrachtet werden, die mit vermehrter oder qualitativ veränderter Porphyrinausscheidung einhergehen.

A. Endogene Störungen

Den endogenen Störungen des Porphyrinstoffwechsels liegt, wie K a n e k o (25) vermutet, ein Mangel an Uroporphyrinogenisomerase zugrunde, so daß vermehrt Uroporphyrinogen I gebildet wird, das dann zu Uroporphyrin I umgewandelt wird. Die pharmakologischen Eigenschaften von Uroporphyrin I sollen die klinischen Erscheinungen der Porphyria congenita auslösen. Die erblichen Porphyrien des Menschen teilt man nach F a l l o t (8) ein in:

1. Congenitale Porphyrie oder Günthersche Krankheit
2. Akute, intermittierende Form
 - a) abdominale Form
 - b) cutane Form des Erwachsenen
3. Gemischte Form

Nach V a n n o t t i (53) gibt es zudem noch eine Myoporphyrrie.

Symptomatologie der endogenen Porphyrien des Menschen

Die congenitale Porphyrie des Menschen ist eine rezessiv vererbte Krankheit. Das Leitsymptom dieser Erkrankung ist die hohe Lichtempfindlichkeit. Bei Bestrahlung der Haut mit sichtbarem Licht entstehen Blasen auf der Haut, es kommt zu tiefgreifenden Ne-

krosen an Nase, Ohren und an den Gliedmaßenenden. Die Einlagerung des Uroporphyrins verursacht eine Braunfärbung der Knochen und eine braunrote Farbe der Zähne. Bei Bestrahlung der Knochen und Zähne mit ultraviolettem Licht fluoreszieren diese rot.

Im Harn werden 10 bis 50 mg Porphyrin je Tag ausgeschieden, davon sind $\frac{4}{5}$ Uroporphyrin I und $\frac{1}{5}$ Koproporphyrin und andere Porphyrine.

Der Tod des Patienten tritt meist durch eine interkurrente Infektion ein. Diese Erbkrankheit wurde an dem bereits klassisch gewordenen Fall Petry von H. F i s c h e r eingehend studiert.

Die akuten intermittierenden Porphyrrien

Diese Erkrankungen werden beim Menschen dominant vererbt.

Bei der abdominalen Form treten starke Bauchschmerzen auf. Sobald diese verschwinden, werden neurologische Symptome mit allgemeinen und psychischen Störungen festgestellt.

Die Ausscheidung von Uroporphyrin überwiegt im Harn, der hell gelassen wird und beim Stehen am Licht nachdunkelt. Uroporphyrin I und III sind als Zinkkomplexsalze im Harn vorhanden, das III Isomere überwiegt dabei. Porphobilinogen ist im Harn stark vermehrt. Der Tod tritt meist durch Bulbärparalyse ein, gelegentlich kommt es zu einer Rückbildung der Symptome und vorübergehender Genesung.

Diese Stoffwechselstörung scheint latent bei den Merkmalsträgern schon in der Jugend vorhanden zu sein, sie wird vermutlich im Alter von 40 - 50 Jahren durch bestimmte Substanzen wie Barbiturate,

Alkohol und ähnliche hepatotoxische Stoffe aus-
löst.

Bei dieser Krankheit wird im Harn auch das Walden-
strömsche Uroporphyrin gefunden, dessen Konstitu-
tion noch umstritten ist, daneben tritt auch
Aminolävulinsäure im Harn auf.

Die cutane Form der intermittierenden Porphyrie
des Erwachsenen tritt im gleichen Lebensalter auf
wie die abdominale Form, sie zeigt nur die Erschei-
nungen an der Haut, wie sie bei der congenitalen
Porphyrie schon beschrieben sind.

Schließlich gibt es beim Erwachsenen noch eine
gemischte Form der akuten, intermittierenden Por-
phyrie, bei der die Symptome der abdominalen Form
und die Symptome der cutanen Form gleichzeitig
und abwechselnd auftreten.

Porphyrien bei Tieren

Beim Rind haben T e u t s c h l ä n d e r (51),
A m o r o s o (1), R h o d e und C o r-
n e l i u s (39), R i m i n g t o n, R o e t s
und F o u r i e (43), N e s t e l (32),
J ø r g e n s e n (20), F o u r i e und
R i m i n g t o n (11) und zahlreiche andere die
erbliche Porphyrie beschrieben. Diese Krankheit
wird beim Rind rezessiv vererbt und ist bei Short-
horn, Holstein-Friesen, Jamaikarindern und beim
dänischen Rotvieh beobachtet worden.

Die Rinder sind im Stall völlig gesund, während auf
der Weide ihr Allgemeinzustand schlecht ist. An den
unpigmentierten Stellen der Haut treten Veränder-
ungen auf, die gleicher Art sind wie beim Sonnen-
brand oder Erythema. Die Haut rötet sich und ist

sehr schmerzhaft, später wird sie hart und löst sich nach einer Woche allmählich ab. Unter den Krusten werden blutig-eitrige Flächen sichtbar, die nur sehr langsam epithelisieren.

Porphyriekranke Rinder haben daneben rotgefärbte Zähne, die im ultravioletten Licht stark fluoreszieren. Die Skelettknochen der Tiere sind dunkelbraun und ebenfalls fluoreszierend.

Die im Harn ausgeschiedenen Porphyrinmengen schwanken sehr stark beim gleichen Tier, sie betragen nach J ø r g e n s e n (20)

Uroporphyrin 6,3 - 3,900 /100 ml Harn

Koproporphyrin 2,1 - 8,300 /100 ml Harn

Im Plasma werden bei gesunden Tieren nur Spuren von Porphyrinen gefunden, bei porphyriekranken jedoch

Uroporphyrin 1 - 27 /100 ml

Koproporphyrin 2,1 - 25 /100 ml

In den Erythrozyten der kranken Tiere tritt viel freies Protoporphyrin auf, bei dem es sich vermutlich um freies Protoporphyrin III handelt. Der Serumeisenspiegel ist bei Porphyriekranken physiologisch oder erhöht.

Auch beim Schwein wurde eine erbliche Störung des Porphyrinstoffwechsels beobachtet (J ø r g e n s e n 21). Im Gegensatz zu Mensch und Rind wird diese Krankheit jedoch dominant vererbt. Bei diesen erbkranken Schweinen sind die Zähne ebenfalls rötlich gefärbt und fluoreszierend und die Knochen braun. Dagegen wurde beim Schwein bis jetzt noch keine Photosensibilität beobachtet. Ob daran die überwiegende Stallhaltung oder kompliziertere Gründe schuld sind, ist ungeklärt.

Die erbkranken Schweine scheiden pro Tag

100 - 10 000	Uroporphyrin	I
und etwa 50	Koproporphyrin	I

aus. Porphobilinogen wurde im Harn bis jetzt noch nicht nachgewiesen. (J ø r g e n s e n und W i t h 22; J ø r g e n s e n 21).

O w e n, S t e v e n s o n und K e i l l i n (34) berichten von einem Schwarzen Labradorhund, dessen bleibende Zähne rot gefärbt und fluoreszierend waren. Leider wurden keine chemischen Analysen durchgeführt. Die Verfasser vermuten, daß es sich hierbei um eine zeitlich begrenzte Störung des Porphyrinstoffwechsels handelte, deren auslösende Ursache unbekannt blieb.

Myoporphyrurie

Nach V a n n o t t i (52) gibt es beim Menschen auch eine Myoporphyrurie. Bei dieser kommt es zu einer ernsten Muskelatrophie und Entfärbung der betroffenen Muskeln. Gleichzeitig treten große Mengen Kreatin, Porphyrin und Myoglobin im Harn auf. Klinisch sind die Erscheinungen der akuten Porphyrie zu beobachten.

V a n n o t t i stellt dieser Erkrankung des Menschen die paroxysmale Myoglobinurie (Lumbago) der Pferde an die Seite, die klinisch und pathologisch-anatomisch mit der Myoporphyrurie des Menschen große Ähnlichkeit hat, bei der aber eine Untersuchung auf Porphyrinausscheidung im Harn, soweit bekannt, noch nicht durchgeführt wurde.

B. Symptomatische Porphyrinurie

mit dem Begriff Porphyrinurie wird ein erhöhtes Vorkommen von Porphyrinen im Harn bezeichnet, dessen Ursache nicht ein erblicher Enzymdefekt ist, sondern eine exogene Störung des Porphyrinstoffwechsels, wobei hier nur die vermehrte Porphyrinausscheidung betrachtet werden soll.

Möglichkeiten zur Störung des Porphyrinstoffwechsels gibt es viele

1. Bei der Synthese:
 - a) Erhöhte Hämatopoese in der Regenerationsphase bei Anämien.
 - b) Enzymschäden durch exogene Gifte.
 - c) Eisenmangel
2. Bei Störung der Leberfunktion:
 - a) Zelluläre Störungen
 - b) Behinderung des Gallenabflusses.
3. Bei vermehrter Porphyrinresorption aus dem Darm:
 - a) Vermehrte Porphyrinaufnahme mit der Nahrung
 - b) Veränderte Resorptionsbedingungen an der Darmschleimhaut
 - c) Übermäßige Produktion von Porphyrinen durch Darmbakterien

Außer den Noxen, die nur an einem der oben zusammengestellten Angriffspunkte angreifen, gibt es andere Agentien, die an mehreren Punkten angreifen. Dazu kommen Stoffe, deren Wirkprinzip unbekannt ist.

Bei den symptomatischen Porphyrinurien tritt vor allem Koproporphyrin vermehrt im Harn, im Kot und in den Erythrozyten auf. Im Serum und in anderen Geweben ist es wegen der geringen Konzentration nur schwer nachzuweisen.

Anämie

Wie aus dem Kapitel Synthese zu ersehen ist, treten Uroporphyrinogen, Coproporphyrinogen und Protoporphyrinogen als Vorstufe des Häm auf, und parallel entstehen die Porphyrine der Isomerenreihe I.

Kommt es in der Folge von Blutungen oder Hämolyse zu stürmischer Regeneration der Erythrozyten, so wird bei der Hämoglobinsynthese vermehrt Coproporphyrin gebildet und über Harn und Galle ausgeschieden (D o b r i n e r 6).

Bleivergiftung

Wird eine gewisse Bleikonzentration im Körper überschritten, so werden vermutlich enzymatische Chemismen spürbar gestört, der Eiseneinbau in das Protoporphyrin ist vermindert oder aufgehoben. Daraus resultiert eine Anämie und erhöhte Protoporphyrinkonzentration in den Erythrozyten. Außerdem tritt eine stark erhöhte Porphyrinausscheidung bis 1 mg/Tag im Harn auf (V a n n o t t i 52)

Da histochemisch kein Blei in den Erythrozyten nachgewiesen werden konnte, nimmt man an, daß das Metall den Transport des Eisens aus dem RES in die Erythroblasten hemmt (F a l l o t 8).

Eisenmangel

Bei Eisenmangel kommt es zu einem Mißverhältnis des Protoporphyrins zum Eisen. Der Protoporphyringehalt der Erythrozyten ist erhöht, hierbei wird aber keine erhöhte Porphyrinurie beobachtet (F a l l o t 8).

Störungen der Leberfunktion

Da die Leber die Aufgabe hat, sowohl die Porphyrine zu verändern (V a n n o t t i 52) als auch Porphyrine unverändert aus dem Serum zu eliminieren und über die Galle in den Darm auszuschcheiden (H i j m a n s v. d. B e r g h et al. 17a) ist zu erwarten, daß Störungen der Leberfunktion sich deutlich in einer erhöhten Porphyrinausscheidung im Harn auswirken. Deshalb bezeichnen G r a f e (14) und V a n n o t t i (52) die quantitative Bestimmung der Porphyrine im Harn als die genaueste und empfindlichste Leberfunktionsprobe, deren einziger Nachteil der große Aufwand ist.

Von den verschiedensten Autoren wurde erhöhte Porphyrinausscheidung bei Hepatitis, Cirrhosis, Leberatrophie und toxischen Leberschädigungen beobachtet. Nach K e h l und G ü n t e r (27) besteht eine enge Korrelation zwischen den Ergebnissen der Laparaskopie, der Histologie und der Porphyrinbestimmung im Harn.

Die große Empfindlichkeit dieser Probe bedingt aber andererseits, daß schon leichte Infekte, Schwangerschaft und ähnliche Zustände, die mit einer stärkeren Belastung der Leberfunktion einhergehen, eine leicht erhöhte Porphyrinausscheidung hervorrufen.

Ebenso ruft die Stenose des Ductus choledochus vermehrte Porphyrinausscheidung und beim Schaf sogar Lichtempfindlichkeit hervor, das bewies experimentell Q u i n (36) durch Anlegen einer Ligatur des Gallenganges beim Schaf.

Von G r a h a m und G o r d o n (15) wird ein klinischer Fall bei einem Merinowidder berich-

tet. Die Ursache der Stenose war eine Zyste von *Cysticercus tennicollis*.

Diese Beobachtungen die beim Wiederkäuer gemacht wurden, können nicht einfach auf Tiere mit einhöhligen Magen übertragen werden, da in den Vormägen ein Porphyrin aus Chlorophyll zu entstehen scheint. Weitere Untersuchungen wären hier nötig.

Andere Stoffe, die möglicherweise durch ihre hepatotoxische Wirkung den Porphyrinstoffwechsel stören, sind Phosphor, Sulfonyl, Trional und Sulfanilamid.

Veränderte Resorption der Porphyrine aus dem Darm

Vermehrte Aufnahme mit der Nahrung

Sowohl Herbivoren wie Carnivoren nehmen mit ihrer Nahrung große Mengen Porphyrine in Form von Myo- und Hämoglobin und Chlorophyll auf. Diese Stoffe werden im Darm bei Tieren mit einhöhligen Magen unter pathologischen Bedingungen in freie Porphyrinmoleküle umgewandelt, im Darm zum Teil resorbiert und über Galle und Harn ausgeschieden.

Beim Wiederkäuer bilden die Lebewesen der Vormägen aus Chlorophyll Phylloerythrin, ein Porphyrin das unter besonderen Bedingungen Photosensibilitäterscheinungen bei den Tieren hervorruft (siehe Geelkopp S. 25).

Blutungen in den Magen-Darm Trakt

Auch Blutungen in das Lumen des Verdauungsapparats können zu einem erhöhten Porphyringehalt, vor allem im Kot, führen. Dabei wird unter dem Einfluß der Magen-Darm-Flora das Protoporphyrin des Häm in Deuteroporphyrin transformiert.

Der Nachweis von Deuteroporphyrin im Kot wurde deshalb auch schon zum Nachweis kryptogener Blutungen vorgeschlagen.

Vermehrte Porphyrinsynthese durch Darmbakterien

Zahlreiche Bakterienarten, wie *Mycobacterium tuberculosis*, *Corynebacterium diphtheriae*, Enterococcen, *Bacterium pyocyaneum*, *Bacterium alkaligenes faecalis*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Staphylococcus aerogenes*, *Bacterium proteus*, *Bacterium coli* und andere sind nach V a n n o t t i (52) in der Lage Porphyrine zu bilden. Durch diese Bakterien ist eine vermehrte Porphyrinsynthese im Darm denkbar. Von V a n n o t t i (52) wird das für die Sprue angenommen.

Verstärkte Resorption durch die erkrankte Darmwand

Eine verstärkte Porphyrinresorption hält V a n n o t t i (52) für möglich bei der Sprue. Diese Vermutung ist aber bisher nicht bewiesen.

Körperfremde Porphyrine die beim Wiederkäuer Photosensibilität hervorrufen

Beim Wiederkäuer bilden die Lebewesen der Vormägen aus Chlorophyll das Porphyrin Phylloerythrin. Dieser Stoff wird im Darm resorbiert und über die Galle größtenteils wieder ausgeschieden. Wird die Gallensekretion durch hepatotoxische Stoffe gestört, oder der Gallenabfluß durch Stenose der abführenden Gallenwege behindert, so wird Phylloerythrin im Blut und anderen Geweben angereichert und über den Harn ausgeschieden. Werden Tiere unter diesen Bedingungen dem Sonnenlicht ausgesetzt, so treten die

Erscheinungen einer Photodermatose auf. Dieses Krankheitsbild wird bei verschiedenen Pflanzenvergiftungen beobachtet.

In Südafrika wird eine Erkrankung beobachtet, die bei Schafen und Ziegen nach der Aufnahme von *Tribulus terrestris* auftritt. Die Krankheit wurde gründlich studiert. *Quin* (36), gelang es nach Ligatur des Ductus choledochus Ikterus und Photosensibilität bei Schafen hervorzu-rufen. *Rimington* und *Quin* (42) konnten Phylloerythrin im Blut solcher Tiere und im Blut natürlich an Geeldikkop erkrankter Schafe nachweisen, außerdem konnten sie Photosensibilität durch Injektion von Phylloerythrin erzeugen. Der hepato-toxische Stoff konnte aus der Pflanze jedoch nicht isoliert werden.

Dagegen konnte *Quin* (37) aus einer anderen Pflanze, aus *Lippia rehmanni*, einen hepatotoxischen Stoff, das "Ikterogenin" isolieren.

Weitere Photodermatosen aus ähnlicher Ursache sind beschrieben. So tritt bei Rindern in Brasilien nach Aufnahme von *Holocalyx glaziovii* eine Lichtsensibilität auf (*Clare* 5).

Ebenso entwickelt sich nach Aufnahme von *Agave lechuguilla* durch Schaf und Rind eine Photosensibilität (*Clare* 5).

Die Symptome bei diesen Krankheiten sind ziemlich gleich, im Bereich des Kopfes treten Oedeme auf, die Haut ist an den unpigmentierten Stellen gerötet, schmerzhaft und verdickt. Nach einiger Zeit werden die Hautstellen nekrotisch und stoßen sich ab, unter der nekrotischen Haut kommt es zu Eiterungsprozessen. Im akuten Stadium der Hautentzündung tritt außerdem ein Ikterus auf, dazu kommen je

nach Ausdehnung der erkrankten Hautflächen mehr
oder weniger starke Störungen des Allgemeinbe-
findens.

IV. Eigene Untersuchungen

Wie sich aus dem Abschnitt über den Porphyrinstoffwechsel ergibt, erhält man einen sehr guten Einblick in dieses Geschehen durch Bestimmung der Tagesausscheidung von koproporphyrin im Harn des Probanden. Um das Ergebnis einer solchen Untersuchung werten zu können, muß die physiologische Tagesmenge bekannt sein. Beim Hund ergeben sich große Schwierigkeiten bei einer solchen Wertung, weil die Größen- und Gewichtsunterschiede beim Hund so groß sind, daß man kaum einen einheitlichen Wert der Porphyrintagesausscheidung für alle Rassen annehmen darf. Da Angaben über die Tagesausscheidung von Koproporphyrin bei Hunden nur in zwei Fällen mit Angabe von Größe und Gewicht vorliegen, und diese Ergebnisse kaum Schlüsse zulassen, wurde in der nachstehenden Untersuchung die tägliche Ausscheidung bei kleinen Hunden, etwa bis zur Größe des Spaniels bestimmt.

Die Tiere wurden zur Harngewinnung für 24 Stunden in Käfige verbracht, die leicht schräg gestellt waren und deren Boden nach einer Seite geneigt war. An der tiefsten Stelle war der Abfluß für den Harn angebracht. Der Futter- und Trinknapf befand sich im Käfig.

An der Ablaufrinne wurden braune Glasflaschen aufgehängt, in die je 4,0 g Natriumcarbonat eingewogen war. Dieser Zusatz wird von S c h w a r t z, . Z i e v e und W a t s o n (46) empfohlen, um eine Zersetzung der Harnporphyrine zu verhindern. Die Flasche mit Harn wurde für 2 - 3 Tage bis zur Extraktion im Kühlschrank bei +4° C aufbewahrt.

Vor der Extraktion blieb der Harn etwa eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen.

Die Gewinnung eines Tagesharns ist beim Hund, wie bei allen Tieren ein großes Problem.

Bei den Tieren, die für die Untersuchung geeignet waren und zur Verfügung standen, konnten keine operativen Eingriffe durchgeführt werden, um etwa Nierenbecken- oder Harnleiterfisteln anzulegen. Somit blieb entweder ein häufiges Katheterisieren oder häufiges Führen der Hunde und Auffangen des Harns, beziehungsweise die Haltung über 24 Stunden im Käfig.

Bei genügend häufigem Katheterisieren kann der produzierte Harn sicher vollständig aufgefangen werden. Fraglich ist dabei, ob wirklich die physiologische Harnmenge abgesondert wird, denn der Reiz des Katheters auf die abführenden Harnwege und die Blase könnte möglicherweise die sezernierte Harnmenge verändern. Vor allem ist auch zu bedenken, daß durch dauerndes Katheterisieren, auch unter sterilen Bedingungen, eine Entzündung der ableitenden Harnwege leicht entstehen kann.

Wollte man die Hunde führen und den Harn mit der Harnkeule auffangen, so würde sicher nur ein Teil des gebildeten und abgesetzten Harns erhalten, damit wäre das Ergebnis der Untersuchung kaum zu verwerten.

Aus diesen Gründen wurden Harnfangkäfige, wie sie J a n s e n (19) beschrieb, mit geringen Vereinfachungen benutzt.

Auch bei dieser Art der Harngewinnung sind Möglichkeiten für Fehlergebnisse noch gegeben.

Es kann die Menge des abgesetzten Harns verändert sein, wenn ein Patient sehr stubenrein ist. Ein Teil des Harns kann während des Abfließens verdunsten und das Porphyrin trocknet am Käfigboden an.

Der Harn kann durch Wasser aus dem Trinknapf verdünnt werden. Schließlich kann der Harn mit Kot aus dem sich Porphyrin in dem Harn löst in Berührung kommen.

Die Hunde die für 24 Stunden in einem solchen Käfig verbleiben, wurden an einigen Tagen vorner kontrolliert, ob sie trotz täglichen Führens zum Zwecke des Harn- und Kotabsatzes im Käfig auch ihren Harn absetzten. Von hunden, die diese Vorbedingung erfüllten, darf angenommen werden, daß sie, wenn sie ganztägig eingesperrt bleiben, auch die ganze sezernierte Harnmenge absetzen.

Sicher wäre es besser, die Hunde 24 oder gar 48 Stunden vorner im Käfig sitzen zu lassen, ehe man mit dem Sammeln beginnt. Darauf wurde aber verzichtet, um die Patienten nicht unnötig zu quälen.

Die Harnmenge, die am Käfigboden antrocknet, dürfte gering sein, da ein ziemlich starkes Gefälle zum Auslauf hin bestand.

Verdunstet wirklich Harn, so bedeutet dies keine Veränderung der absoluten koproporphyrinmenge im Tagesharn, da mit der Volumenverminderung eine Erhöhung der Porphyrinkonzentration einhergeht.

Gleiches gilt hinsichtlich der Möglichkeit, daß Hunde mit dem Trinknapf spielen und Wasser verschütten. Hier wird die Harnmenge scheinbar vermehrt und damit die Koproporphyrinkonzentration erniedrigt. Nachteilig wirkt sich dies nur für den Fall aus, daß eine Konzentration um 0,02 mg/l vorlag, welche die unterste Grenze der bestimmbaren Konzentrationen darstellt.

Kommt der abgesetzte Harn mit Kot in Berührung, so kann Porphyrin aus dem Kot in den Harn übergehen, dadurch kann unter Umständen eine höhere Konzentration im Harn vorgetäuscht werden, als tatsächlich vorhanden

ist. Dieser Kontakt ist aber wieder wegen des starken Gefälles der Käfige zum Abfluss hin nur sehr kurz und hat deshalb sicher nur eine sehr geringe Bedeutung als Fehlerquelle.

Methodik der Koproporphyrinextraktion

Um Koproporphyrin aus dem Harn zu gewinnen, benützt man einige der chemisch-physikalischen Eigenschaften dieses Stoffes, die es erlauben, ihn aus der wässrigen Phase abzutrennen.

Dazu stehen einige grundsätzlich verschiedene Methoden zur Verfügung. Bei den meisten Verfahren wird die gute Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln ausgenutzt. Als Lösungsmittel empfehlen sich solche, die sich leicht von der wässrigen Phase trennen lassen, wie Di-Äthyläther, Äthylacetat und Chloroform.

Der quantitative Übergang des Koproporphyrins aus der wässrigen in die organische Phase lässt sich begünstigen dadurch, daß ein bestimmter pH - Wert durch Pufferung eingestellt wird.

Bei allen Extraktionsmethoden, bei denen man sich organischer Lösungsmittel bedient, erhält man in der Meßlösung sowohl I und III Isomeres.

Sollen die Isomeren voneinander gesondert gewonnen werden, so kann das mittels Chromatographie geschehen (R i m i n g t o n u n d M i l l e s 41).

Gleichzeitig mit den Porphyrinen werden von den Lösungsmitteln auch andere Stoffe aus dem Harn aufgenommen, deshalb wird bei allen Methoden gewaschen, wenn das Koproporphyrin in der organischen Phase gelöst ist. Was geschieht zum Teil mit Wasser, zum Teil mit Lösungen von Chemikalien in niedriger Konzentration. Diese sollen verunreinigende und die photometrische Mes-

sung störende Stoffe lösen, das Porphyrin selbst aber möglichst völlig in der organischen Phase belassen.

Neben dem Waschen haben diese Lösungen noch andere Funktionen. In der Methode nach S c h w a r t z, Z i e v e und W a t s o n (46) soll durch eine 1 %ige Natriumacetatlösung das Uroporphyrin aus dem Äthylacetat gelöst werden. Damit wird im Salzsäureextrakt später nur noch das Koproporphyrin gemessen.

Die in Natriumacetat löslichen Porphyrine können im Waschwasser qualitativ fluorometrisch bestimmt werden.

Aus der organischen Phase wird Koproporphyrin schließlich mit starken Säuren einer bestimmten Konzentration extrahiert. Sehr häufig bedient man sich hierzu der Salzsäure, in der sich Koproporphyrin gut löst.

Hat man auf diese Weise eine Messlösung erhalten, so wird deren Lichtextinktion oder Fluoreszenz gemessen.

Aus der Stärke der Extinktion an einem bestimmten Punkt des Spektrums kann man nach dem Lambert-Beerschen Gesetz auf die gemessene Konzentration schließen.

Eine Kurve, bei der der Logarithmus der Extinktion gegen die Wellenlänge oder Frequenz aufgetragen ist, läßt in beschränktem Umfang Schlüsse auf die Identität des untersuchten Stoffes und darauf zu, wie rein er in der Meßlösung vorliegt.

Geringe Änderungen in der Intensität der Absorption und in der Lage des Absorptionsmaximums ergeben sich bei Änderungen in der Konzentration der Salzsäure.

Spezielle Methodik

Die Methode, die als günstigste für die durchzuführen-

den Untersuchungen in Frage kommt, wird durch zwei Vorbedingungen sehr stark mitbestimmt.

1. Die zur Verfügung stehenden Geräte
2. Die zu erwartende Konzentration

Als Meßgerät diente ein Spektralphotometer P M Q II (Zeiss) mit Quarzküvetten von 2 cm Schichtdicke.

Da wegen des sehr hohen Preises nur eine ganz geringe Menge Koproporphyrin in Substanz zur Verfügung stand, konnte es nicht direkt als Vergleichs- und Eichsubstanz benutzt werden. Für alle mengenmäßig aufwendigen Untersuchungen wurde deshalb Hämatoporphyrin verwendet, das üblicherweise für Eichzwecke benutzt wird, und leicht und preisgünstig zu erhalten ist. Das Hämatoporphyrin wurde mit Koproporphyrin im gleichen Lösungsmittel und unter sonst gleichen Bedingungen verglichen.

Mittels einer Verdünnungsreihe von Hämatoporphyrin in 1,5 N Salzsäure wurden der günstigste Konzentrationsbereich und die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes für diesen Bereich geprüft.

Die Extinktion bei 401 nm, dem Maximum der Kurve unter obigen Bedingungen, ist im Bereich von 0,02 bis 0,2 mg/l direkt proportional der Konzentration. Gemessen wurde bei einer Schichtdicke von 2 cm in Quarzküvetten. Für die Konzentrationen zwischen 0,02 und 0,2 mg/l ist also die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes erwiesen.

Um einen Anhaltspunkt für die zu erwartende Konzentration zu erhalten, wurde ein Hundeharn nach der Methode nach Schwartz, Zieve und Watson (46) untersucht. Die dabei gefundene Konzentration von Koproporphyrin betrug 0,04 mg/l. Die Konzentration in der Meßlösung ist dann 0,008 mg/l und

liegt damit außerhalb des Bereiches für den die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes bewiesen ist.

Bestimmung nach S c h w a r t z, Z i e v e und W a t s o n (46):

Reagenzien:

Aethylacetat DAB 6

Pufferlösung (aus 4 Volumen Eisessig und 1 Volumen gesättigter Natriumacetatlösung)

Salzsäure 1,5 N p. A.

Natriumacetatlösung 1,0 %

Jodlösung 0,005 %

Technik:

In einen Schütteltrichter werden verbracht:

5 ml Harn

5 ml Puffer

75 - 100 ml Aethylacetat

15 - 20 ml Aqua dest.

und 2 - 3 Min. lang geschüttelt. Die wässrige Phase wird abgetrennt und aufbewahrt.

Die organische Phase wird 2 mal mit je 20 - 30 ml 1 %iger Natriumacetatlösung nachgewaschen. Die Waschwässer werden mit der wässrigen Phase der ersten Extraktion vereinigt und im UV-Licht zum qualitativen Uroporphyrinnachweis auf Fluoreszenz geprüft. Die organische Phase wird mit 20 - 30 ml Jodlösung 0,005 % geschüttelt, um das Porphyrinogen in Porphyrin überzuführen.

Anschließend wird die organische Phase mit 4 mal 5 ml 1,5 N Salzsäure extrahiert, die Salzsäureportionen werden vereint und in einem Meßkölbchen auf 25 ml aufgefüllt.

Modifikation der Methode:

Reagenzien wie oben.

Technik:

25 ml Harn

25 ml Puffer

100 ml Aethylacetat

50 ml Aqua dest.

werden im Schütteltrichter zusammen 2 - 3 Min. geschüttelt. Die wässrige Phase wird verworfen.

Die organische Phase wird 2 mal mit je 50 ml Natriumacetat 1 % gewaschen, die Waschwässer werden ebenfalls verworfen.

Die organische Phase wird mit 4 x 5 ml Salzsäure 1,5 N geschüttelt, die Salzsäureportionen werden vereint und auf 25 ml aufgefüllt.

Die Extinktion der Salzsäurelösung wird im Spektralphotometer bei 380, 401 und 422 nm gemessen und die Konzentration der Lösung mit Hilfe der Korrekturformel nach S v e i n s s o n, R i m i n g t o n und B a r n e s (50) errechnet (siehe Seite 39).

Da wegen der geringeren Nachweisempfindlichkeit der spektralphotometrischen Messung eine höhere Konzentration notwendig ist als für die Fluorometrie, muß die Ausgangsmenge des Harns vergrößert werden. Das aus der größeren Menge Harn extrahierte Porphyrin wird in der gleichen Menge Salzsäure gelöst, wie in der Originalmethode. Geht man dabei von der fünffachen Menge Harn aus, so erhält man in der Meßlösung eine Konzentration, die im Meßbereich des Gerätes liegt.

um den gleichen pH - Wert wie im Originalverfahren zu

erhalten, muß man entsprechend der Harnmenge auch die Puffermenge auf 25 ml erhöhen.

Auf eine Vermehrung der Aethylacetatmenge wurde verzichtet. Um die Verunreinigung, die durch die Vermehrung der Harnaussgangsmenge auftritt nicht zu groß werden zu lassen, wurde die Menge des Waschwassers und der Natriumacetatlösung verdoppelt.

Um mögliche Ungenauigkeiten auszuschalten, die durch relative Verminderung der Reagenzien entstehen könnten, wurde bei jeder Extraktionsserie parallel eine Kontrollextraktion durchgeführt und rechnerisch berücksichtigt (siehe Kapitel: Kontrolle der Extraktion Seite 38).

Da die Aufgabe dieser Arbeit nur die Bestimmung der physiologischen Tagesausscheidung von Koproporphyrin im Harn war, wurde auf den qualitativen Uroporphyrinnachweis und den Porphobilinogennachweis verzichtet.

Prüfung der modifizierten Methode

Im folgenden wird geprüft, ob mit dieser abgeänderten Methode quantitativ extrahiert werden kann.

Identität und Reinheit des gewonnenen Extrakts

Um zu prüfen, ob die Extrakte, die mit der abgeänderten Methode gewonnen wurden, überhaupt Porphyrin enthielten, wurde mit dem Spektralphotometer im Bereich zwischen 380 und 422 nm die Extinktion gemessen und gegen die Wellenlänge aufgetragen.

Zum Vergleich wurde das Absorptionsspektrum einer Koproporphyrinlösung in Salzsäure gleicher Normalität im gleichen Spektralbereich gemessen und in das gleiche Koordinatensystem eingetragen. Mit einer Hämato-

porphyrin - Salzsäurelösung wurde in gleicher Weise verfahren.

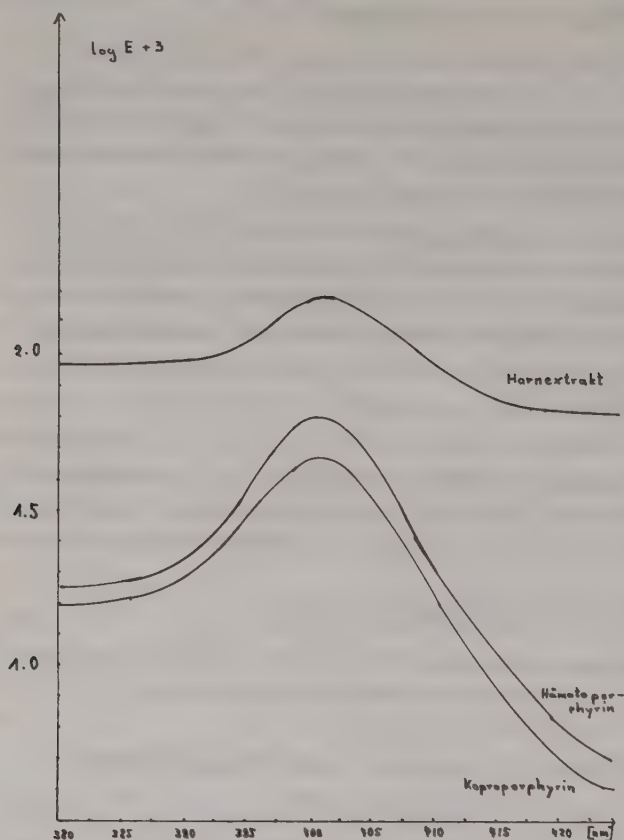


Abb. 5

Der Vergleich der drei Spektren zeigt, daß alle bei 401 nm ihr Absorptionsmaximum haben.

Aus dem Verlauf kann man schließen, daß der gewonnene Extrakt zur quantitativen Messung ausreichend rein ist, wenn man die Korrekturformel nach Sveinsson, Rimmington und Barnes (50) (siehe Seite 39). Das Spektrum des Harnextraktes kommt den Extinktionskurven von Dresel, Rimmington und Tooth (7) gleich.

Maxima und Verlauf der Spektren des Koproporphyrins und des Hämatoporphyrins und des Harnextraktes stimmen

so gut überein, daß man Hämatoporphyrin als Vergleichs-
substanz bei Kontrollversuchen benutzen kann.

Die Extinktionsintensität von Kopro- und Hämatopor- phyrin

Die Extinktion für eine 1 %ige Koproporphyrinlösung
bei 1 cm Schichtdicke ($E_{1\text{ cm}}^{1\%}$) in 1,5 N Salzsäure wur-
de gemessen und errechnet. Für Koproporphyrin beträgt
 $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 7350.

Dieser Wert kommt den Literaturangaben sehr nahe.

K e h l u n d G ü n t e r (26) geben 5730,
J o p e u n d O ' B r i e n (23) 7450 und P a i c
(35) 6830 an.

Für Hämatoporphyrin ist $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ in 1,5 N Salzsäure 7910.

Da beim Abwiegen der Koproporphyrinmenge zu dieser Mes-
sung mit einer Fehlermöglichkeit von 20 % gerechnet
werden muß, wird der Umrechnungsfaktor 0,84 beibehal-
ten (H o f m a n n 18). Multipliziert man die Ex-
tinktion einer Hämatoporphyrinlösung mit 0,84 so er-
hält man die Extinktion, die eine Koproporphyrinlös-
ung gleicher Konzentration haben würde.

Quantitative Prüfung der geänderten Extraktionsmethode

Nachdem gezeigt ist, daß mit der modifizierten Methode
qualitativ ausreichende Extrakte gewonnen werden, gilt
es nachzuweisen, daß die Extraktion auch quantitativ
erfolgt. Es sollen also bekannte Mengen zugesetzten
Hämatoporphyrins entweder vollständig oder in dem zu
prüfenden Bereich in konstantem Prozentsatz reextra-
hiert werden, oder es soll die Gültigkeit des Nernst'
schen Verteilungssatzes für die Bedingungen der modi-
fizierten Methode bewiesen werden.

Zu diesem Beweis wurde eine Verdünnungsreihe mit einer Reextraktionsreihe verglichen.

Konzentration mg/l	Verdünnungsreihe E	Reextraktion E	Fehlerprozent
0,02	0,036	0,031	12,6
0,04	0,073	0,071	1,8
0,08	0,148		
0,1	0,189	0,189	0,9
0,16	0,308		
0,2	0,389	0,374	4,1

Damit kann als erwiesen gelten, daß mit der abgeänderten Methode eine quantitative Hämatoporphyrinextraktion durchgeführt werden kann.

Kontrolle der Extraktion

Theoretisch könnte man mit diesen Angaben die Konzentration einer Koproporphyrinlösung aus ihrer Extinktion bestimmen. Beim Extrahieren und Waschen treten aber möglicherweise Verluste auf, die bei den einzelnen Extraktionsserien schwanken. Um diese Schwankungen rechnerisch berücksichtigen zu können, wurde bei jeder Extraktionsserie eine Kontrollextraktion mit Hämatoporphyrin durchgeführt. Aus dem Löslichkeitsverhalten der beiden Porphyrine darf man annehmen, daß die anteilmäßigen Verluste bei sonst gleichen Bedingungen innerhalb einer Extraktionsserie gleich sind.

Um also etwaige Verluste an Porphyrin durch die Extraktion auszugleichen, setzt man folgende Gleichung an:

$$c_k = E_k \cdot \frac{c_H}{E_H}$$

Um die unterschiedliche Extinktionsintensität von Koproporphyrin und Hämatoporphyrin auszugleichen, multipliziert man zusätzlich noch mit $1/0,84$, die Gleichung lautet dann:

$$c_k = E_k - \frac{c_H}{E_H} \times \frac{1}{0,84}$$

Durchführung der Kontrolle

1 ml Hämatoporphyrinlösung der Konzentration 1 mg/l wird mit 24 ml Wasser in einen Schütteltrichter gegeben. Diese verdünnte Porphyrinlösung wird nun genau so behandelt wie die gleiche Menge des zu untersuchenden Harns. Bei 380, 401 und 422 nm werden die Extinktionen der vereinigten Salzsäurefraktionen gemessen und nach S v e i n s s o n und R i m i n g t o n (50) korrigiert. Die korrigierte Extinktion, die man als Ergebnis erhält, geht in die Berechnungsformel ein.

Aus Kontrollextraktionen liegen 17 Einzelergebnisse vor. Der Mittelwert der Extinktion bei einer Konzentration von 0,04 mg/l beträgt 0,0688. Die Standardabweichung ist 0,007. Die Streuung ist sehr gering, es kann also auch mit einem relativ geringen Fehler bei der Extraktion des Koproporphyrins aus dem Harn gerechnet werden.

Die Korrekturformel nach S v e i n s s o n, R i m i n g t o n und B a r n e s (50)

Bei Messungen der Extinktion des Lichts werden wesentlich höhere Werte, als der Konzentration entsprechen würde, dadurch vorgetäuscht, daß zu der Extinktion des zu messenden Stoffes eine Extinktion kommt, die von Stoffen herrührt, welche die Meßlösung verunreinigen.

Deshalb haben Sveinsson, Rimmington und Barnes (50) für die spektralphotometrische Messung von Porphyrinen eine Korrekturformel eingeführt. Für diese Formel wird die Extinktion der Porphyrinlösung bei der Wellenlänge des Extinktionsmaximums und bei zwei Wellenlängen, die symmetrisch zum Extinktionsmaximum angeordnet sind, gemessen. Im vorliegenden Fall wurde bei 401 nm - dem Maximum - und bei 380 und 422 nm - den symmetrischen Punkten - gemessen.

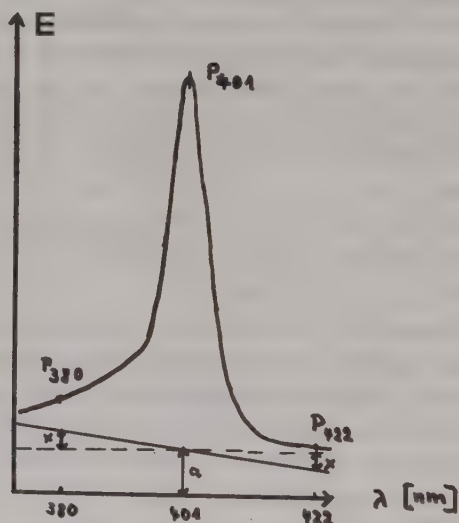


Abb. 6

Abbildung 6 zeigt ein schematisiertes Extinktionsspektrum eines Porphyrins, auf dem die Punkte P₃₈₀, P₄₀₁ und P₄₂₂ liegen. Sie stellen die Meßwerte an den drei Stellen des Spektrums dar. Die schräg verlaufende, durchgezogene Linie stellt eine Extinktion dar, die

sich im Meßbereich linear ändert, und die von einer Verunreinigung herrührt. Im folgenden soll sie Störex-
tinktion genannt werden.

Streng genommen gilt die Korrekturformel nur für den Fall, daß sich die Störex-
tinktion im Meßbereich linear ändert. Wie D r e s s e l, R i m i n g t o n
und T o o t h (7) zeigten, kann diese Bedingung
nahezu erfüllt werden.

Aus der Abbildung folgt:

a = Störex-
tinktion bei 401 nm

a + x bei 380 nm

und

a - x bei 422 nm

Die Extinktion einer reinen Koproporphyrinlösung bei
der Wellenlänge n soll im folgenden K_n heißen, die
Extinktion einer Hämatoporphyrinlösung entsprechend
 H_n .

Nun folgt aus der Abbildung:

$$P_{380} = K_{380} + a + x \quad (1)$$

$$P_{401} = K_{401} + a \quad (2)$$

$$P_{422} = K_{422} + a - x \quad (3)$$

Die Messungen mit Koproporphyrinlösung ergeben:

$$K_{380} = 0,175 K_{401} \quad (4)$$

$$K_{422} = 0,014 K_{401} \quad (5)$$

Setzt man (4) in (1) und (5) in (3) ein, so erhält

man:

$$P_{380} = 0,175 K_{401} + a + x$$

$$P_{422} = 0,014 K_{401} + a - x$$

Addiert man beide,

$$P_{380} + P_{422} = 0,175 K_{401} + a + \cancel{x} + 0,014 K_{401} + a - \cancel{x}$$

so hebt sich x weg und man erhält:

$$P_{380} + P_{422} = 0,189 K_{401} + 2a \quad (6)$$

Da $P_{401} = K_{401} + a$, kann a leicht eliminiert werden:

$$2 P_{401} = 2 K_{401} + 2a \quad (2)$$

$$P_{380} + P_{422} = 0,189 K_{401} + 2a \quad (6)$$

Subtrahiert man (6) von (2), so erhält man:

$$2 P_{401} - (P_{380} + P_{422}) = (2 - 0,189) K_{401}$$

$$2 P_{401} - (P_{380} + P_{422}) = 1,811 K_{401}$$

$$K_{401} = \frac{2P_{401} - (P_{380} + P_{422})}{1,811}$$

Und K_{401} ist gemäß den Voraussetzungen die Extinktion des reinen Koproporphyrins bei 401 nm, dem Extinktionsmaximum.

Analog kann man für Hämatoporphyrin die gleiche Korrekturformel aufstellen.

Die Meßergebnisse sind unter gleichen Bedingungen wie oben:

$$H_{380} = 0,177 H_{401}$$

$$H_{422} = 0,021 H_{401}$$

Die Korrekturformel lautet dann:

$$H_{401} = \frac{2P_{401} - (P_{380} + P_{422})}{1,802}$$

Um die Kontrolleextraktion zu berücksichtigen, wurde oben die Formel

$$c_k = \frac{E_k}{E_h 0,84} \times c_h$$

aufgestellt. Für E_k setzt man jetzt besser K_{401} und für

c_h H_{401} .

Nimmt man nun an, daß die Differenz zwischen 1,811 und 1,802, also 0,009 oder 0,5 % innerhalb der Fehlerbreite liegen, so können diese Korrekturfaktoren unberücksichtigt bleiben, da nur das Verhältnis $\frac{E_k}{E_h}$ oder $\frac{K_{401}}{H_{401}}$ gilt und durch den Korrekturfaktor also gekürzt werden kann.

Die Untersuchungsergebnisse

Für die Bestimmung der Normalwerte der Tagesausscheidung wären eigentlich völlig gesunde Hunde notwendig. Diese stehen in einer Klinik in den seltensten Fällen zur Verfügung. Aus diesem Grunde mußte zum Teil auf Patienten zurückgegriffen werden, die nur geringfügig erkrankt waren, oder an Krankheiten litten, die nach dem, was man über den Porphyrinstoffwechsel weiß keine Änderung in der Tagesausscheidung der Porphyrine erwarten ließen.

Grundsätzlich kann man den Porphyrinstoffwechsel bei allen Säugetieren als gleichgeartet betrachten (V a n n o t t i 52). Dies gilt umso mehr, als ein großer Teil der Erkenntnisse auf diesem Gebiet an Versuchstieren und gerade auch an Hunden gewonnen wurde.

Die Auswahl unter den Patienten wurde deshalb so getroffen, daß nur Patienten mit ungestörtem Allgemeinbefinden und unverdächtigen Blut- und Harnbefunden in den Versuch genommen wurden. Gerade bei den kleinen Hunderassen stellen solche Patienten einen großen Anteil, die an Hauterkrankungen oder an sonstigen Erkrankungen leiden, bei denen eine Störung des Porphyrinstoffwechsels nicht zu erwarten ist.

Die Auswahl der Patienten dürfte in dieser speziellen Fragestellung durchaus den Anforderungen genügen, die

an gesunde Versuchstiere gestellt werden. Die routinemäßige Überwachung über längere Zeit dürfte im vorliegenden Fall sogar besser sein.

Übersicht über die Untersuchungsergebnisse bei 29 untersuchten Hunden

Laufende Nummer	Rasse	Gewicht kg	Tages- harn ml	Kopro Konz. Mikro- gramm/ml	Kopro pro Mikro- gramm
1.	Teckel	6,5	300	0,05	15,0
2.	Foxter- rier	5,5	300	0,056	16,8
3.	Teckel	7,0	250	0,066	16,5
4.	Pudel	8,0	550	0,052	28,6
5.	Spaniel	9,0	290	0,02	5,8
6.	Teckel	2,5	170	0,156	26,5
7.	Teckel	6,0	190	0,03	5,7
8.	Teckel	8,0	850	0,03	25,5
9.	Rehpin- scher	3,0	410	0,02	8,2
10.	Jagdter- rier	7,0	580	0,03	17,4
11.	Spaniel	17,0	430	0,07	30,1
12.	Teckel	9,0	320	0,07	22,4
13.	Teckel	18,0	430	----	----
14.	Teckel	9,0	190	0,05	9,5
15.	Pudel	5,0	180	0,04	7,2
16.	Teckel	9,0	410	----	----
17.	Spaniel	11,0	700	0,03	21,0
18.	Foxter- rier	6,0	190	0,06	11,4
19.	Zwerg- schnauzer	4,0	290	0,04	11,6

Fortsetzung der Tabelle

Laufende Nummer	Rasse	Gewicht kg	Tages- harn ml	Kopro Konz Mikro- gramm/ml	Kopro pro Mikro- gramm
20.	Teckel	9,0	120	0,08	9,6
21.	Teckel	7,0	170	0,02	3,4
22.	Teckel	8,0	600	0,02	12,0
23.	Pudel	7,0	150	0,21	34,2
24.	Foxter- rier	7,0	570	0,04	22,8
25.	Teckel	9,5	19	0,09	1,7
26.	Teckel	10,0	470	----	----
27.	Spaniel	14,0	300	0,05	15,0
28.	Jagdter- rier	7,0	115	0,08	9,2
29.	Teckel	7,0	140	0,07	9,2

Auswertung der Ergebnisse

Die Gewichte der einzelnen Hunde schwanken zwischen 2,5 und 18 kg. Das mittlere Gewicht ist 8,13 kg.

Der Mittelwert für die Koproporphyrintagesausscheidung ist 13,8 Mikrogramm/Tag, bei Schwankungen von 0 bis 34,2 Mikrogramm/Tag.

Die Standartabweichung für das Gewicht ist 4,9 kg und für die Porphyrinausscheidung 9,2 Mikrogramm/Tag.

Eine Korrelation zwischen Gewicht und ausgeschiedenem Koproporphyrin konnte nicht nachgewiesen werden.

Der Faktor der Korrelation r_{xy} ist -0,06.

V. Diskussion der Ergebnisse

Die gefundenen Werte der täglichen Koproporphyrinausscheidung zeigen eine recht große Streubreite. Das entspricht den Verhältnissen beim Menschen, bei dem bekanntlich auch recht große Schwankungen in der Tagesausscheidung auftreten. Wichtig ist lediglich die obere Grenze der physiologischen Ausscheidung. Sie kann für die hier untersuchten Hunderassen etwa mit 34 Mikrogramm/Tag angenommen werden.

Die von D o b r i n e r (6) gefundenen Mengen der täglichen Ausscheidung sind wesentlich größer, allerdings macht dieser Autor keine Angaben über die Grösse seiner Versuchshunde und er gewann den Tagesnarn durch Nierenbeckenfisteln.

Mit den von S c h w a r t z, Z a g a r i a und W a t s o n (45) angegebenen Werte stimmen dagegen die in den vorliegenden Untersuchungen gewonnenen gut überein. Die genannten Autoren fanden für den Hund allgemein 50 Mikrogramm/Tag.

Die beste Übereinstimmung besteht dagegen mit den Ergebnissen von L a r s o n und W a t s o n (29), die für Hunde mit einem Gewicht von 20 bis 30 pound (ca. 9 - 13,5 kg) eine physiologische Tagesausscheidung von 10 bis 30 Mikrogramm ermittelten.

Obwohl man zunächst annehmen könnte, daß die Körpermasse der Tiere eine Rolle spielt, konnte in den eigenen Untersuchungen keine Korrelation zwischen Gewicht und Tagesausscheidungen gefunden werden.

VI. Zusammenfassung und Schlussätze

Die vorliegende Arbeit hatte die Aufgabe, die physiologische Tagesausscheidung von Koproporphyrin bei Hunden zu untersuchen, wobei besonders kleine Hunderassen berücksichtigt werden sollten.

Zunächst werden die Eigenschaften der für diese Arbeit wichtigsten Porphyrine besprochen.

Es wird dann der physiologische Porphyrinstoffwechsel für Mensch und Tier, insbesondere der des Hundes dargestellt.

Auf die endogenen Stoffwechselstörungen beim Menschen, dem Rind und dem Schwein wird kurz eingegangen.

Im Zusammenhang mit dem Stoffwechsel werden die exogenen Störungen mit vermehrter Porphyrinausscheidung geschildert.

Die Methode zur quantitativen Messung des Koproporphyrins im Harn nach S c h w a r t z, Z i e v e und W a t s o n (46) wurde modifiziert. Die geänderte Methode wurde geprüft. Eine Kontrolle der Extraktionsausbeute wurde routinemäßig durchgeführt und die Korrektur der Meßwerte nach S v e i n s s o n, R i m i n g t o n und B a r n e s (50) am Beispiel des Koproporpnyrins abgeleitet.

Bei 29 Hunden kleiner Rassen mit einem Durchschnittsgewicht von 8,13 kg und Schwankungen zwischen 2,5 und 18 kg, wurde eine Tagesausscheidung von Koproporphyrin von 0 bis 34 Mikrogramm mit einem Mittelwert von 13,8 Mikrogramm/Tag gefunden.

Die Tagesausscheidung konnte in keine Relation zum Körpergewicht der Tiere gebracht werden.

VII. Literaturverzeichnis

1. Amoroso, E.C.,
Loosmore, R.M.,
Rimington, C. und
Tooth, B.E. Congenital porphyria in bovines
first living cases in Britain.
Nature, 180, 230-231, (1957)
2. Anderson, R.L.
und Tove, S.B. Effect of copper deficiency
on synthesis of haem.
Nature, 182, 315, (1958)
3. Boas, J. Die Porphyrine und ihre Bedeu-
tung für die Verdauungspatho-
logie.
Dtsch. med. Wschr. 1933 I,
126-128
4. Bogorad, L. The enzymatic synthesis of por-
phyrins from porphobilinogen.
J. Biol. Chem. 233, 501-519,
(1958)
5. Clare, N.T. Photodynamic action and its
pathological effects.
in A. Hollaender, Radiation
Biology New York, Toronto,
London 1956
6. Dobriner, K. Excretion of porphyrin by dogs.
Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.
36, 757-760, (1937)
7. Dresel, E.I.B.,
Rimington, C. und
Tooth, B.E. Determination of urinary por-
phyrin by a direkt extraction
method.
Scand. J. Clin. Lab. Inverst. 8,
73-78, (1956)
8. Fallot, P. Stoffwechsel der Blut- und
Gallenfarbstoffe.
in Thannhauser, Lehrbuch des
Stoffwechsels und der Stoff-
wechselkrankheiten 725-809,
Thieme Verlag Stuttgart 1957
9. Fischer, H. und
Hilmer, H. Ueber Koproporphyrinsynthese
durch Hefe und ihre Beein-
flussung.
Hoppe Seylers für Physiol.
Chem. 153, 167-214, (1926)

10. Fischer, H. und Orth, H. Die Chemie des Pyrrols. Akad. Verlagsgesellschaft 1937, Leipzig Bd. II, 1. Hälfte.
11. Pourie, P.J.J. und Rimington, C.R. A further case of congenital porphyrinuria (pink tooth) in a living grade Friesland cow in South Africa (Cedara case). Onderstepoort J. Vet. Sci. 10, 431-436, (1938)
12. Gibson, K.D., Laver, W.G. und Neuberger, A. Initial stages in the biosynthesis of porphyrins. Biochem. J. 70, 71-81, (1958)
13. Goldberg, A. Paton, W.D.M. und Thompson, J.W. Pharmacology of the porphyrins and porphobilinogen. Brit. J. Pharmacol. 9, 91-94, (1954)
14. Grafe, E. Ernährungs- und Stoffwechselkrankheiten. Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1958)
15. Graham, N.P.H. und Gordon, H.M. Photosensitization associated with occlusion of the bile duct of merino wether. Austral. Vet. J. 13, 125-126, (1937)
16. Heilmeyer, L. Medizinische Spektrophotometrie. Fischer Verlag Jena 1933
17. Hijmans van den Bergh, A.A. und Grottepass, W. Porphyrinämie ohne Porphyrinurie. Klin. Wschr. 12 I, 586-589, (1933)
- 17a Hijmans van den Bergh, A.A., Grottepass, W. und Revers, F.E. Beitrag über das Porphyrin in Blut und Galle. Klin. Wschr. 11 II, 1534-1536, (1932)
18. Hofmann, H. Ein Beitrag zur Uroporphyrinbestimmung. Klin. Wschr. 41, 668-669, (1963)

19. Jansen, A. Quantitative Erythrozytenbestimmung im Harnsediment bei gesunden und kranken Hunden. Diss. Gießen, 1963
20. Jørgensen, S.K. Studies on congenital porphyria in cattle in Denmark. Brit. vet. J. 117, 1-10, 61-73, (1961)
21. Jørgensen, S.K. Congenital porphyria in pigs. Brit. vet. J. 115, 160-175, (1959)
22. Jørgensen, S.K. und With, T.K. Angeborene Porphyrie beim Schwein und Rind in Dänemark. Nature, 176, 156-158, (1955)
23. Jope, E.M. und O'Brien, J.R.E. Spectral absorption and fluorescence of coproporphyrin isomers I and III and the melting-points of their methyl esters. Biochem. J. 39, 239-244, (1945)
24. Kämmerer, H. Ausgewähltes über Porphyrin, Hämatin und Hämverbindungen. Dtsch. Arch. klin. Med. 195, 388-413, (1949)
25. Kaneko, J.J. Porphyrins and the porphyrias. in Cornelius C.E. und Kaneko J.J. ed. Animal Biochemistry Academic Press New York and London 1963
26. Kehl, R. und Günter, E. Spektrophotometrische Methode zur Bestimmung des Koproporphyrins. Klin. Wschr. 32, 121-122, (1954)
27. Kehl, R. und Günter, B. Papierchromatographische Analyse von Porphyrinisomeren. Z. physiol. Chem. 297, 254-257, (1954)
28. Kikuchi, G., Kumar, A., Talmage, P. und Shemin, D. The enzymatic synthesis of delta-aminolevulinic acid. J. Biol. Chem. 233, 1214-1219

29. Larson, E.A. und
Watson, C.J. Studies of coproporphyrin II.
J. Clin. Invest. 28 3, 452-
464, (1949)

30. Lipson, R.L. und
Baltes, E.J. Photodynamic properties of a
particular hematoporphyrin
derivative.
AMA Arch. Dermatol. 82, 508-
516, (1960)

31. Meyer-Betz, F. Untersuchungen über die biolo-
gische (photodynamische) Wir-
kung des Hämatoporphyrins und
anderer Derivate des Blut- und
Gallenfarbstoffes.
Dtsch. Arch. klin. Med. 112,
476-503, (1913)

32. Nestel, B.L. Bovine congenital porphyria
(pink tooth) with a note on
five cases observed in Ja-
maica.
Cormell Vet. 48, 430-439, (1958)

33. Nicholas, R.E.H.
und Rimington, C. Qualitative analysis of the
porphyrins by partition.
chromatography.
Scand. J. Clin. Laborat. Invest.
1, 12-18, (1949)

34. Owen, L.N.,
Stevenson, D.E.
und Keilin, J. Abnormal pigmentation and fluo-
rescence in canine teeth.
Res. vet. Sci. 3, 139-146,
(1962)

35. Paic, M. Spectres d'absorption dans
l'ultraviolet de la copropor-
phyrine et de quelques com-
plexes métalliques de celle-ci.
Ct. r. Acad. Sci. Paris 203.
933-935, (1936)

36. Quin, J.I. Studies on the photosensitiza-
tion of animals in South Africaa.
The effect of surgical obstruc-
tion of the normal bile flow.
Onderstepoort J. Vet. Sci. Ani-
mal Ind. 1, 505-526, (1933)

37. Quin, J.I. Studies on the photosensitization of animals in South Africa. The toxicity of Lippia rehmanni (pears) and Lippia pretoriensis (pears). Onderstepoort J. Vet. Sci. Animal Ind. 1, 501-504. (1933)
38. Reitlinger, K. und Klee, E. Zur biologischen Wirkung der Porphyrine. Arch. exp. Path. Pharmacol. 127, 277-286, (1928)
39. Rhode, E.A. und Cornelius, C.E. Congenital porphyria (pink tooth) in Holstein-Friesian calves in California. J. Amer. vet. med. Ass. 132, 112-116, (1958)
40. Rimington, C. A reinvestigation of turacin, the copper porphyrin pigment of certain birds belonging to the Musophagidae. Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B. 127, 106-120, (1939)
41. Rimington, C. und Miles, P.A. A study of the porphyrins excreted in the Urine by a case of congenital porphyria. Biochem. J. 50, 202-206, (1951)
42. Rimington, C. und Quin, J.I. Studies on the photosensitization of animals in South Africa. The nature of the photosensitizing agent in geeldikkop. Onderstepoort J. Vet. Sci. Animal Ind. 3, 137-157, (1934)
43. Rimington, C., Roets, G.C.S. und Fourie, P.J.J. Quantitative studies upon porphyrin excretion in bovine congenital porphyria (pink tooth). Onderstepoort J. vet. Sci. 10, 421-429, (1938)
44. Rimington, C. und Sveinsson, S.L. The spectrophotometric determination of uroporphyrin. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2, 209-216, (1950)

45. Schwartz, S.,
Zagaria, R. und
Watson, C.J. Effect of irradiation on coproporphyrin excretion by dogs. in R.E. Zirkle ed. Biological Effects of External and Gamma Radiation. Pt. 2
Office of Techn. Service,
Washington DC 1956 zitiert
nach J.J. Kaneko (25)
46. Schwartz, S.,
Zieve, L. und
Watson, C.J. An improved method for the determination of urinary coproporphyrin and an evaluation of factors influencing the analysis.
J. Lab. and Clin. Med. 37,
843-859, (1951)
47. Shemin, D. und
Rittenberg, D. The biological utilization of glycine for the synthesis of the protoporphyrin of hemoglobin.
J. Biol. Chem. 166, (2) 621-625,
(1946)
48. Siedel, W. Pyrrole, Pyrrolfarbstoffe und Derivate.
Biochem. Taschenbuch 1956
Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg
49. Simici, D. Bull. Soc. med. Hop. Bucarest
9/10 (1938), zitiert nach
Vannotti (52)
50. Sveinsson, S.L.
Rimington, C.
und Barnes, H.D. Complete porphyrin analysis of pathological urines.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1,
2-11, (1949)
51. Teutschlaender,
O.R. Zur Kenntnis der Osteohämo-
chromatose.
Virch. Arch. Bd. 2/7, 393, (1914)
52. Vannotti, A. Porphyrins
Hilger and Watts London 1954
53. Vannotti, A. Porphyrine und Porphyrin-
krankheiten.
Handbuch der inneren Medizin,
Stoffwechselkrankheiten, 779-
811, Springer Verlag Berlin-
Göttingen-Heidelberg. (1955)

54. Watson, C.J. The erythrocyte protoporphyrin variation in respect to erythrocyte protoporphyrin and reticulocytes in certain of the anaemias. Arch. int. Med. 86, 797-803, (1950)
55. Westall, R.G. Isolation of porphobilinogen from urine of a patient with acute porphyria. Nature, 170, 614-616, (1952)
56. Zeile, K. Pyrrolfarbstoffe in Flaschenträger-Lennartz Physiologische Chemie, 848-908, Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1951
57. Zieve, L.,
 Hill, E.
 Schwartz, S. und
 Watson, C.J. Normal limits of urinary coproporphyrin excretion determined by an improved method. J. Lab. Clin. Med. 41, 663-669, (1953)
58. Zondag, H.A. und
 Van Kampen, E.J. Spectral absorption of coproporphyrin in relation to the estimation in urine. Clin. Chem. Acta 1, 127-134, (1956)

Es ist mir eine angenehme Pflicht,
Herrn Professor Dr. O. Dehner für
die Überlassung des Themas und die
jederzeit gern gewährte Unterstützung
recht herzlich zu danken.

Außerdem gilt mein Dank Herrn Dr.
M. Sernetz vom Institut für Biochemie
und Endokrinologie der Haustiere
für seine freundliche Beratung.

Lebenslauf

Am 27. März 1940 wurde ich als Sohn des Metzgermeisters Hermann Seeger und seiner Ehefrau Luise geb. Weinhardt in Stuttgart geboren.

Vom September 1946 bis September 1951 besuchte ich die Grundschule in Waldenbuch/Württemberg. Vom Herbst 1951 bis zum Februar 1960 ging ich in das Gymnasium Stuttgart-Vaihingen. Im Februar legte ich an dieser Schule die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1960 schrieb ich mich an der Universität Tübingen für das Fach Biologie ein. Während dieses Semesters erkannte ich, daß mich eine praktische Tätigkeit mehr befriedigen würde. Aus diesem Grunde ging ich im November 1960 nach Gießen um hier das Studium der Veterinärmedizin zu beginnen. Im Frühjahr 1962 legte ich in Gießen die tierärztliche Vorprüfung ab und im Februar 1965 bestand ich die tierärztliche Prüfung.

Vom März bis August 1965 leistete ich meine Praktikantenzeit bei Dr. Karl Alms in Harpstedt Bez. Bremen ab. Seit 1. Dezember 1965 bin ich mit der Verwaltung einer wissenschaftlichen Assistentenstelle an der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik beauftragt.

